

ゲノムスケールの DNA 設計・合成による細胞制御技術の創出
2019年度採択研究代表者

2020 年度 年次報告書

山西 陽子

九州大学 大学院工学研究院機械工学部門
教授

電界誘起気泡及び DNA ナノ粒子結晶による長鎖 DNA の導入・操作技術の研究

§ 1. 研究成果の概要

本研究申請では、穿孔性の高い物理導入手段「電界誘起気泡」法、DNA ナノ粒子結晶技術を分野横断的に組み合わせて、長鎖 DNA を「包んで細胞に入れて徐放する」ことで細胞内での長鎖 DNA を機能させることを目指し研究を遂行している。

- ・物理スケールに非依存な穿孔性の高い物理導入手段「電界誘起気泡」法
- ・様々な物理スケールの分子を封入可能な DNA ナノ粒子結晶
- ・ゲノム編集を含む分子生物学・光化学的ツール

を組み合わせ、

- (1) 長鎖 DNA を DNA ナノ粒子結晶に封入するプロセス
- (2) 電界誘起気泡による DNA ナノ粒子結晶の細胞への物理的導入
- (3) DNA ナノ粒子結晶による細胞内長鎖 DNA 徐放と機能発現を確立し、

長鎖 DNA を「包んで入れて徐放する」ことで物理的に脆弱な長鎖 DNA を細胞に容易に導入し、細胞内で長鎖 DNA を機能させる。他の導入法の国内外の類似研究とは導入対象のダイナミックレンジと導入材料の大きさにおいて一線を画す技術を目指して研究を行った。

2020 年度のチーム全体の研究成果の概要は下記の通りである。

- (a) DNA の機能化によって微細構造の中に約 25 nm の巨大分子の封入と結合に成功した。
- (b) 気泡によって誘起された電気と物理的刺激による細胞への穿孔を用いた新しい気泡インジェクター法を確立し、プラスミド DNA の細胞への導入を達成した。一部の細胞においては従来のリポフェクション法よりも高い導入効率を得ることを達成した。
- (c) 微細構造の機能化によって光による微細構造の分解と除法を達成した。
- (d) Cas9 結合微細構造のゲノム編集のデモンストレーションを行った。
- (e) マイクロ空間内の安定な環境下において核生成、核成長などのさまざまな機能を達成するためのオールインワンの統合マイクロ流体システムを提案し実証実験をスタートした。

§ 2. 研究実施体制

(1) 山西グループ(九州大)

① 研究代表者:山西 陽子 (九州大学大学院工学研究院 教授)

② 研究項目

- ・電界誘起気泡による DNA ナノ粒子結晶の細胞への導入デバイス構築
- ・発生气泡のサイズコントロールと侵襲性評価と制御
- ・細胞導入済み DNA ナノ粒子結晶の結晶性評価手法によるダメージ評価
- ・電界誘起気泡による動物細胞 NIH/3T3 等への DNA ナノ粒子結晶導入
- ・動物細胞に導入された DNA ナノ粒子結晶に封入された DNA の徐放及び機能発現

(2) 田川グループ(名古屋大 未来材料・システム研究所 准教授)

① 主たる共同研究者:田川 美穂 (名古屋大学未来材料・システム研究所 准教授)

② 研究項目

- ・細胞導入済み DNA ナノ粒子結晶の結晶性評価手法によるダメージ評価の実験
- ・長鎖 DNA を封入するための DNA ナノ粒子結晶の構築

(3) 菅野グループ(産業技術総合研究所)

① 主たる共同研究者:菅野 茂夫 (産総研生物プロセス部門 主任研究員)

② 研究項目

- ・長鎖 DNA を封入するための DNA ナノ粒子結晶の構築
- ・ゲノム編集技術応用による結晶開裂技術・機能発現技術の構築

【代表的な原著論文情報】